

CIRAD
ATP 96/21

SÉMINAIRE GESTION RAISONNÉE DES RÉSISTANCES
DES PLANTES AUX PATHOGÈNES

MONTPELLIER 11-12 SEPTEMBRE 1997

LA POURRITURE BRUNE

DU CACAOYER

C. LANAUD et al

4 espèces principales en cause

- - *Phytophthora palmivora*
- *Phytophthora megakarya*
- *Phytophthora capsici*
- *Phytophthora citrophthora*

● --> Perte de récolte par pourriture des cabosses

De 15 à 80 % de pertes selon les espèces

---> Aucune résistance totale observée dans l'espèce *Theobroma cacao*, mais un degré variable de tolérance selon les clones

Questions qui se posent
et qui conditionnent la sélection
et la gestion des résistances

- Déterminisme de ces résistances partielles :

- . Nombre de gènes impliqués

- . Gènes majeurs ? ou importance de chaque gène dans la variation

- Stabilité de l'expression de ces gènes selon le contexte génétique et environnemental

- - Existence des mêmes gènes de résistance dans les différents géniteurs ou dans les différents pools génétiques

- Gènes communs, ou spécifiques mis en jeu dans les 3 espèces

● ---> Cumul possible des gènes de résistance (nb de géniteurs/ croisement/ individus à impliquer dans les croisements)

● --> Existence possible de liaisons favorables ou défavorables avec d'autres caractères importants pour la sélection

● --> Distribution des différents gènes de résistance dans les populations hybrides

DISPOSITIF MIS EN OEUVRE

Cartographie et recherche de QTL

* Plusieurs descendances analysées :

. Trinidad		
(<i>P. palmivora</i>)	F.BA x F.HA	1
(<i>P. capsici</i>)		
. Côte d'Ivoire, <i>P. palmivora</i>	F.HA x Tr	2
. Cameroun, <i>P. megakarya</i>	F.HA x Tr	2
. Montpellier,		
(<i>P. palmivora</i>)		
(<i>P. megakarya</i>)	Hyb(F.HA) x F.BA	1
(<i>P. capsici</i>)		

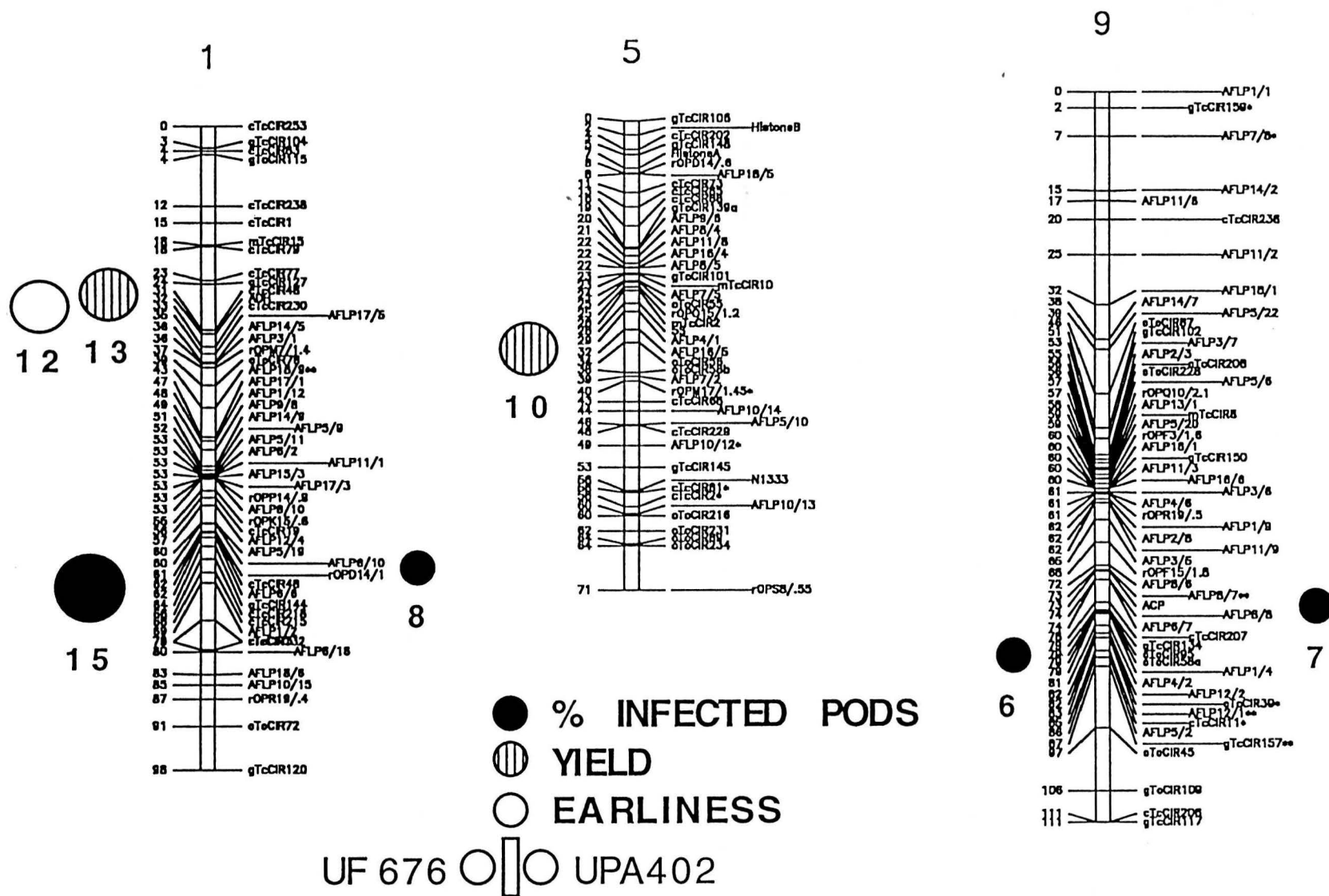
* Evaluation de la résistance par l'analyse de données :

- . De récolte (% de cabosses pourries)
- . D'inoculations artificielles sur feuilles et cabosses (RCI, Cameroun, Trinidad, Montpellier)

* Relations entre les différents types de données de résistance

- . Par l'approche cartographie
- . Par tests au champ sur différents essais

* Approche gènes candidats



QTL s FOR RESISTANCE TO *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* AND YIELD IN COCOA

APPROCHE "GENE CANDIDAT"

Objectifs

Trouver des marqueurs moléculaires situés sur les gènes de résistance

● ---> Identification de gènes de résistance sur plusieurs espèces

Tomate	cf9, cf2	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tabac	N	Virus TMV
Lin	L6	<i>M. lini</i>
Arabidopsis	RPS2, RPM1	<i>Pseudomonas syringae</i>
Riz	Xa21	<i>Xanthomonas oryzae</i>

● Les gènes de résistance ont une certaine homologie structurale ---> codes pour des protéines ayant des régions riches en leucine (LRR).

Ces LRR sont impliquées dans les interactions entre protéines

---> rôle dans le complexe récepteur-ligand.

Des motifs conservés se retrouvent dans le NBS (Nucleotide Binding Site) :

Kinase-1a (P. loop)

Kinase 2

Kinase 3a

Ils se retrouvent en des positions similaires dans RPS2, N et L6.

---> Il est possible de définir des amorces consensus dans ces régions conservées pour amplifier des R gènes chez d'autres espèces.

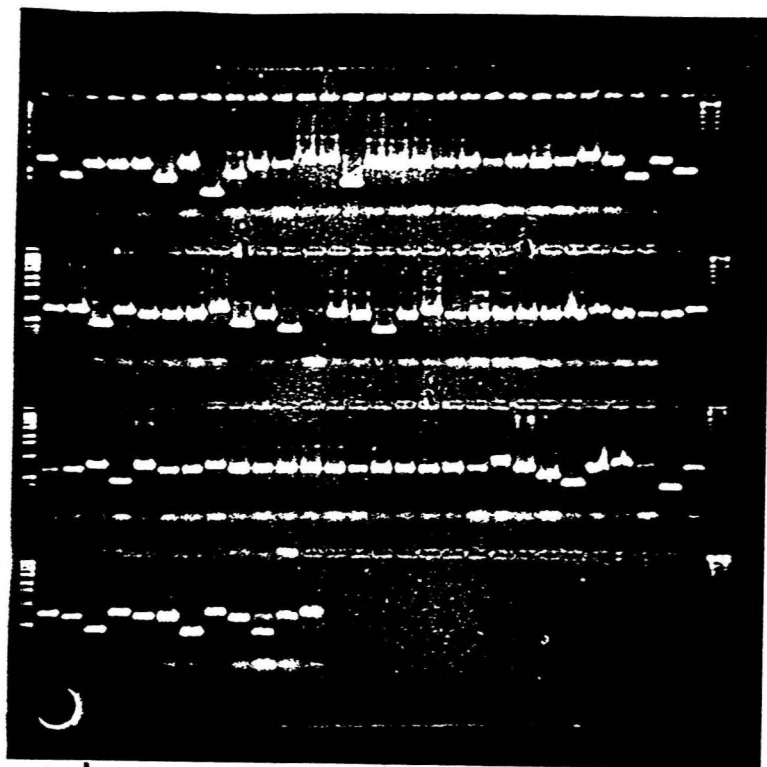
---> Ces primers ont été utilisés pour amplifier l'ADN de cacaoyer.

---> Clonage et séquençage des produits d'amplification.

---> 12 avaient une homologie avec des Rgènes de pomme de terre et de riz.

---> Régions conservées entre N et L6 retrouvées chez le cacaoyer.

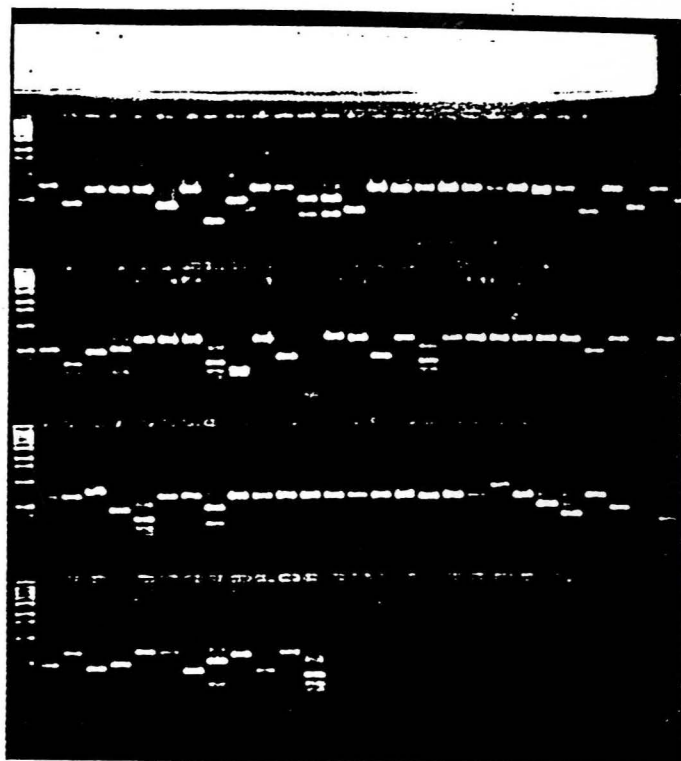
---> Hybridation et cartographie.



entier

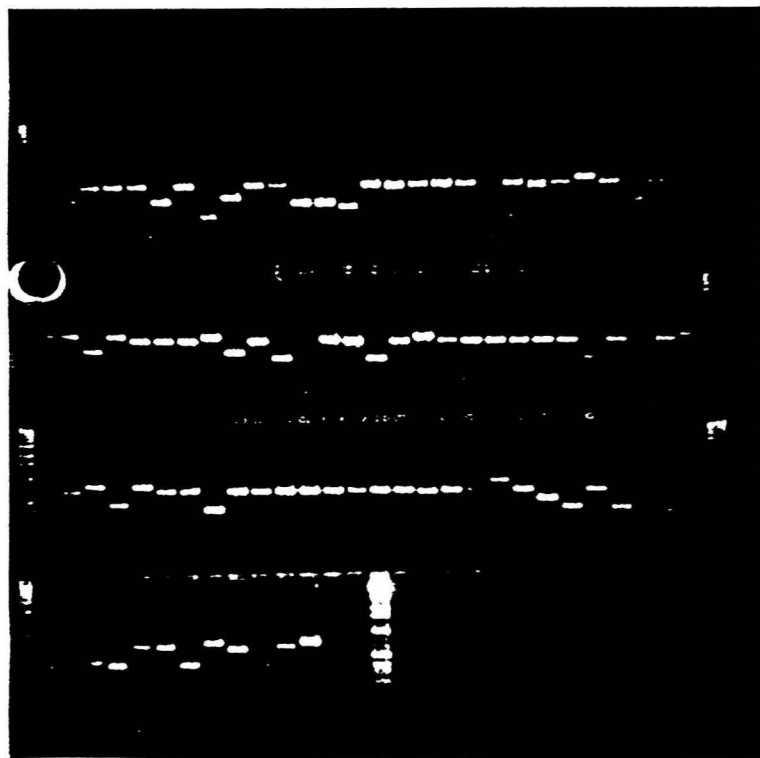
Sca 6

Fragments amplifiés par les amorces
dégénérées et clonés

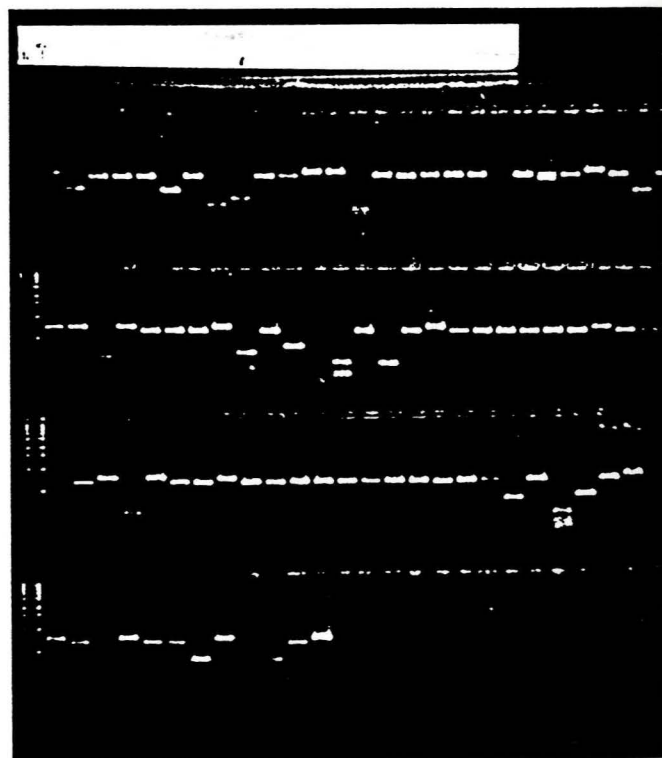


Sca 6 / Xba I

→ mêmes fragments digérés
par Xba I ↑, Dra I, ou rsa I
← ↓



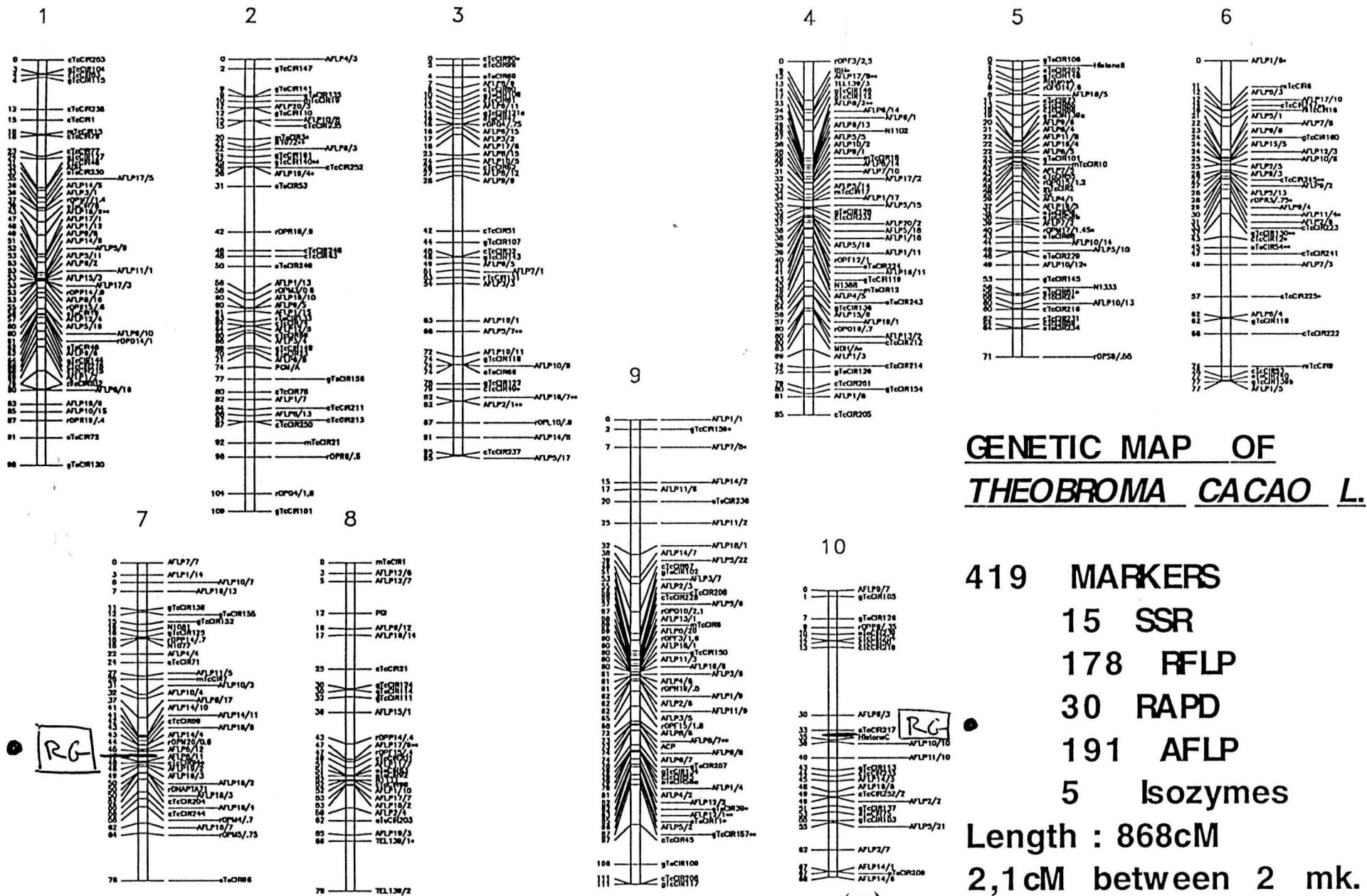
Sca 6 / Dra I



Sca 6 / rsa I

Comparaison des séquences d'acides aminés entre
R gènes clonés et fragments homologues du cacao

																						- Majority
		-----G M G G																				Majority
		250 260 270																				
2		-----G G																				O. sativa h8558-12 prot
2		-----																				sol.tub.st121 prot
21		-----G M G G																				sca6/A1 prot
1		-----G M G G																				142/f12
9		-----G M G G																				142/H2 prot
181		G I D T H L E K I E S L L E I G I N G V R I M G I W																				tabac Rgene N prot
239		G I D D H I T A V L E K L S L D S E N V T M V G L Y																				Flax Rg L6 prot
																						- Majority
		V G K T T L A Q L V Y N D - - N R V S S Y F D L K A - - -																				Majority
		280 290 300																				
4		V G K T T L A Q M V Y N D - - E R V E R Y F Q L A G - - -																				O. sativa h8558-12 prot
2		- - - - - K S V Y N D - - E K V K N H F G L K A - - -																				sol.tub.st121 prot
25		V G K T T L A Q L V Y N D - - N R V N D Y F D L K A - - -																				sca6/A1 prot
3		V G K T T L A Q L V Y N D - - N S I N Q S F D Y K A - - -																				142/f12
13		V G K T T L A Q L V Y N D - - N S I R D Y F D L K A - - -																				142/H2 prot
211		V G K T T I A R A I F D T L L G R M D S S Y Q F D G A C F L																				tabac Rgene N prot
269		I G K T T I A K A V Y N - - - K I S S C - - F D C C C C F I																				Flax Rg L6 prot
																						- Majority
		- W I C V S E - K F D V X X I T K T I L S S I G R X S C D V																				Majority
		310 320 330																				
28		- V D V S E G H F D V K A I A R K I I M S F T R N P C D I																				O. sativa h8558-12 prot
19		- V I C V S E - P Y D I L R I T K E L L Q E T G L T - - -																				sol.tub.st121 prot
49		- V I C V S E - N F D I T D I T K S I L S S V G H K S G D A																				sca6/A1 prot
85		- V I C V S K - D F D T F L V T K T I L Q S I I D E Y C I V																				142/f12
37		- V I C V S N - E F D V I K I T K T I L E S V T S Q S C N K																				142/H2 prot
241		K D I K E - - N R G M H S L Q N A L L S E L L R - - E K																				tabac Rgene N prot
293		D N I R E T Q E K D G V V V L Q K K L V S E L L R I D S G S																				Flax Rg L6 prot
																						- Majority
		E N - - N L N N L Q V K L K E K L S G K K F L L V L D D V W																				Majority
		340 350 360																				
57		E - - - D M G N L Q N M I T A Q V Q D M A T F L V L D N V K																				O. sativa h8558-12 pro
44		D N - - N I N O L Q V K L K E S L K G K K F L I V L D D V K																				sol.tub.st121 prot
77		E A - - N I N N L Q I K L K E K L S G K K L L L I L D D L V																				sca6/A1 prot
169		- P - - S I D T F Q V M L Q E R L F G K R F L V L D N V K																				142/f12
65		- N - - D I M S L Q V E L K E N L S S K K F L V L D D V K																				142/H2 prot
266		A M Y N N E E D G K H Q M A S R L R S K K V L I V L D D I -																				tabac Rgene N prot
323		V G F N N D S G G R K T I K E R V S R F K I L V L D D V -																				Flax Rg L6 prot



Localisation des fragments clones homologues des R gènes sur la carte cacaoyer

Participants

COTE D'IVOIRE

Ismael KEBE
Jeanne N'GORAN

TRINIDAD

Olivier SOUNIGO
Jean-Marc THEVENIN

CAMEROUN

Salomon NYASSE

MONTPELLIER

Denis DESPREAUX
Michel DUCAMP
Marie-Henriette FLAMENT
Mohamed HASSAN
Claire LANAUD
Didier PAULIN
Isabelle PIERETTI
Ange-Marie RISTERUCCI